

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成 16 年 12 月 24 日 (2004.12.24)

【公表番号】特表 2004-522402 (P2004-522402A)

【公表日】平成 16 年 7 月 29 日 (2004.7.29)

【年通号数】公開・登録公報 2004-029

【出願番号】特願 2001-500766 (P2001-500766)

【国際特許分類第 7 版】

C 1 2 N 15/09

A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 39/395

A 6 1 K 48/00

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 16/18

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 1 2 P 21/02

C 1 2 Q 1/02

G 0 1 N 33/53

G 0 1 N 33/566

// C 1 2 P 21/08

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

A 6 1 K 39/395 D

A 6 1 K 39/395 N

A 6 1 K 48/00

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 16/18

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 P 21/02 C

C 1 2 Q 1/02

G 0 1 N 33/53 D

G 0 1 N 33/566

C 1 2 N 5/00 A

A 6 1 K 37/02

C 1 2 P 21/08

【手続補正書】

【提出日】平成 14 年 1 月 29 日 (2002.1.29)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 5 2 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 5 2 0】

**実施例 138 : ヒト PRO1384 をコードする cDNA クローンの単離**

上述の実施例 1 に記載したように、phrap を用いて他の EST 配列に対してコンセンサス DNA 配列を構築した。このコンセンサス配列を DNA54192 と命名する。DNA54192 コンセンサス配列に基づき、1) 対象とする配列を含む cDNA ライブラリを PCR により同定するために、また 2) PRO1384 に対する全長コード配列のクローンを単離するためのプローブとしての使用のために、オリゴヌクレオチドを合成した。

PCR プライマー (正方向及び逆方向) を合成した :

正方向 PCR プライマー 5' - TGCAGCCCCCTGTGACACAAACTGG - 3' (配列番号 : 425)

逆方向 PCR プライマー 5' - CTGAGATAAACCGAGCCATCCTCCCA - 3' (配列番号 : 426)

さらに、合成オリゴヌクレオチドハイブリッド形成プローブは、次のヌクレオチド配列 :  
ハイブリッド形成プローブ

5' - GGAGATAGCTGCTATGGGTTCCTTCAGGCACAACTTAACATGGGAAG - 3' (配列番号 : 27)

を持つ DNA54192 配列から作成した。

全長クローンの供給源に対して数種のライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからの DNA を、上で同定した PCR プライマー対での PCR 増幅によりスクリーニングした。次いで、ポジティブライブラリを、プローブオリゴヌクレオチド及び PCR プライマーの一方を用いて PRO1384 遺伝子をコードするクローンを単離するために使用した。cDNA ライブラリの作成のための RNA はヒト胎児肝臓から単離した。

上述のようにして単離したクローンの DNA 配列決定により、(ここで DNA71159 - 1617 [Fig305、配列番号 : 423] と命名される) PRO1384 に対する全長 DNA 配列と PRO1384 に対する誘導タンパク質配列が得られた。

PRO1384 の全コード配列を Fig305 (配列番号 : 423) に示す。クローン DNA71159 - 1617 は、ヌクレオチド位置 182 - 184 に見かけの翻訳開始部位を有し、ヌクレオチド位置 869 - 871 に見かけの停止コドンを含む単一のリーディングフレームを含む。予測されたポリペプチド前駆体は 229 アミノ酸長である。Fig306 に示した全長 PRO1384 タンパク質は約 26,650 ダルトンの見積もり分子量と約 8.76 の pI を有する。さらなる特徴は、アミノ酸約 32 - 57 の II 型膜貫通ドメイン、およびアミノ酸約 68 - 71、120 - 123、および 134 - 137 の潜在的な N - グリコシル化部位を含む。

Fig306 (配列番号 : 424) に示した全長配列の WU - BLAST2 配列アラインメント分析法を使用しての Dayhoff データベース (バージョン 35.45 SwissProt35) の解析により、PRO1384 アミノ酸配列と次の Dayhoff 配列 : AF054819\_1, HSAJ1687\_1, AF009511\_1, AB010710\_1, GEN13595, HSAJ673\_1, GEN13961, AB005900\_1, LECHCHICK, AF021349\_1, 及び NK13\_RAT の間の相同性が明らかになった。

クローン DNA71159 - 1617 は ATCC に寄託され、ATCC 寄託番号 203135 が付されている。

**【手続補正 2】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0578

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0578】

**実施例 177 : ヒト PRO361 をコードする cDNA クローンの単離**

上記実施例 1 に記載したように phrap を用いて他の EST 配列に対してコンセンサス DNA 配列を組み立てた。このコンセンサス配列を、ここで DNA40654 と命名する

。DNA 40654 コンセンサス配列に基づいて、1) PCRにより対象とする配列を含む cDNA ライブラリを同定するため、及び 2) PRO361 の全長コード配列のクローンを単離するプローブとして使用するために、オリゴヌクレオチドを合成した。

次のように正方向及び逆方向 PCR プライマーを合成した：

正方向 PCR プライマー 5' - AGGGAGGATTATCCTTGACCTTTGAAGACC - 3' (配列番号：528)

正方向 PCR プライマー 5' - GAAGCAAGTGCCCAAGCTC - 3' (配列番号：529)

正方向 PCR プライマー 5' - CGGGTCCCTGCTCTTTGG - 3' (配列番号：530)

逆方向 PCR プライマー 5' - CACCGTAGCTGGGAGCGCACTCAC - 3' (配列番号：531)

逆方向 PCR プライマー 5' - AGTGTAAGTCAAGCTCCC - 3' (配列番号：532)

さらに、以下のヌクレオチド配列を持つ合成オリゴヌクレオチドハイブリッド形成プローブをコンセンサス DNA 40654 配列から作成した。

ハイブリッド形成プローブ

5' - GCTTCCCTGACACTAAGGCTGTCTGCTAGTCAGAAATTGCCCTCAAAAGAG - 3' (配列番号：427)

全長クローンの供給源について幾つかのライブラリをスクリーニングするために、ライブラリからの DNA を上で同定した PCR プライマー対の一方での PCR 増幅によりスクリーニングした。次いで、ポジティブライブラリを、プローブオリゴヌクレオチドを用いて PRO361 遺伝子をコードするクローンを単離するのに使用した。cDNA ライブラリ作成のための RNA は、ヒト胎児腎臓組織から単離した。

上記のように単離したクローンの DNA 配列決定により、PRO361 の全長 DNA 配列 [ここでは DNA 45410 - 1250 と命名] (配列番号：514) 及び PRO361 の誘導タンパク質配列が得られた。

DNA 45410 - 1250 の全ヌクレオチド配列を Fig 327 (配列番号：514) に示す。クローン DNA 45410 - 1250 は、単一のオープンリーディングフレームを含み、ヌクレオチド位置 226 - 228 に見かけの翻訳開始部位を持ち、ヌクレオチド位置 1519 - 1521 の停止コドンで終端する (Fig 327)。予測されるポリペプチド前駆体は 431 アミノ酸長である (Fig 328)。Fig 328 に示した全長 PRO361 タンパク質は約 46,810 ダルトンの推定分子量及び約 6.45 の pI を有する。また、膜貫通ドメイン (アミノ酸 380 - 409) 及びアルギナーゼタンパク質ファミリーに典型的な配列 (アミノ酸 3 - 14 及び 39 - 57) を含む興味ある領域が Fig 328 に示されている。クローン DNA 45410 - 1250 は ATCC に寄託され、ATCC 寄託番号 209621 が付与された。

全長 PRO361 ポリペプチドのアミノ酸配列の分析により、その部分がムチン及び / 又はキチナーゼタンパク質と有意な相同性を有していることが示唆され、PRO361 が新規なムチン及び / 又はキチナーゼタンパク質でありうることを示している。